

## EasySep™ 人 Naïve B 细胞分选试剂盒

可处理  $1 \times 10^9$  个细胞

产品号 #17254

负选

文档号 #1000029466 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

电话: 400 885 9050

E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM)

### 产品介绍

通过免疫磁珠负选，在短至9分钟内从新鲜或冻存的人外周血单个核细胞（PBMCs）或洗涤的白细胞单采术样本中分离出未被磁珠标记且高度纯化的Naïve B (CD3-CD19+CD27-) 细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达98%，回收率高
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非Naïve B细胞。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾出。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或 DNA/RNA 提取。

### 包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
EasySep™ 人Naïve B细胞分选抗体混合物	17254C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物。
EasySep™ 分选抗体混合物增强剂	17900	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	可提高分选抗体混合物性能的溶液。
EasySep™ Dextran RapidSpheres™ 50103磁珠	50103	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在水中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，但应按照上述说明进行储存。

### 样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 [www.stemcell.com/primarycells](http://www.stemcell.com/primarycells)。

#### 外周血

通过在密度梯度离心液（如Lymphoprep™，产品号 #18060）上离心，从全血中制备外周血单个核细胞（PBMC）悬液。如需更快地制备PBMC，可以使用SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD\*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。

如果使用冻存的PBMC，在室温（15 - 25°C）下用终浓度为100 µg/mL的DNase I溶液（1mg/mL；产品号 #07900）孵育细胞至少15分钟，再进行标记和分选。使用37 µm的细胞滤筛（产品号 #27250）过滤细胞悬液去除聚团，以获得最佳结果。样本制备完成后，以  $5 \times 10^7$  有核细胞 /mL 的浓度重悬细胞。

\* SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用。其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞（MNCs）。SepMate™ 在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区，SepMate™ 仅限于研究用途（RUO）。

#### 白细胞单采术样本

通过添加等体积的推荐缓冲液或含有2%胎牛血清（FBS）的PBS来清洗外周血白细胞单采术样本。在室温（15 - 25°C）下，500 x g，离心10分钟。去除上清液，并将细胞以  $5 \times 10^7$  细胞/mL 的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

### 推荐缓冲液

EasySep™ 缓冲液（产品号 #20144）、RoboSep™ 缓冲液（产品号 #20104）或含有2% FBS和1 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca<sup>++</sup>和Mg<sup>++</sup>。

## 使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1和表2。

表1. EasySep™人Naïve B细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEPTM 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	将抗体混合物增强剂加入到样本中。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
3	在样本中加入分选抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中混匀。	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立即进行下一步骤	50 µL/mL 样本 不进行孵育，立即进行下一步骤
6	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL</li> <li>若样本 &gt; 4 mL，定容至10 mL</li> </ul>
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
7	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，倾倒下清液至一个新的试管中。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管
8	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育1分钟	室温孵育1分钟
9	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*，将富集细胞悬液倾倒入一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*保持磁极和试管倒置 2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

表2. EasySep™ 人 Naïve B 细胞分选试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极		
步骤	说明	EasyEights™ (产品号 #18103)		Easy 50 (产品号 #18002)
		5 mL 流式管	14 mL 流式管	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 2 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 1 - 8.5 mL	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 10 - 45 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38007)	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)	50 mL (30 x 115 mm) 锥形管 (如: 产品号 #38010)
2	将抗体混合物增强剂加入到样本中。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
3	在样本中加入分选抗体混合物。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
4	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒	30秒
5	将RapidSpheres™磁珠加到样本中。	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本	50 μL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟	室温孵育3分钟
6	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	· 若样本 ≤ 4 mL，定容至5 mL · 若样本 > 4 mL，定容至10 mL	· 若样本 ≤ 20 mL，定容至25 mL · 若样本 > 20 mL，定容至50 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
7	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管。	使用新的5 mL流式管	使用新的14 mL流式管	使用新的50 mL锥形管
8	从磁极中取出试管，然后将新试管（不加盖）放入磁极中孵育以进行第二次分选。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟	室温孵育10分钟
9	小心地吸出**（切勿倾倒）富集的细胞悬液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)

\*\*使用一个移液管一次收集所有的上清液 (EasyEights™ 5 mL流式管使用一个2 mL血清移液管 [产品号 #38002]; EasyEights™ 14 mL流式管使用一个10 mL血清移液管 [产品号 #38004])。

## 使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表3。

表3. RoboSep™ 人Naïve B细胞分选试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 <sup>7</sup> 细胞/mL 0.5 - 8 mL
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 95 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: 产品号 #38008)
2	选择实验程序。	人Naïve B细胞负选试剂盒 - 17254
3	涡旋振荡RapidSpheres™磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用

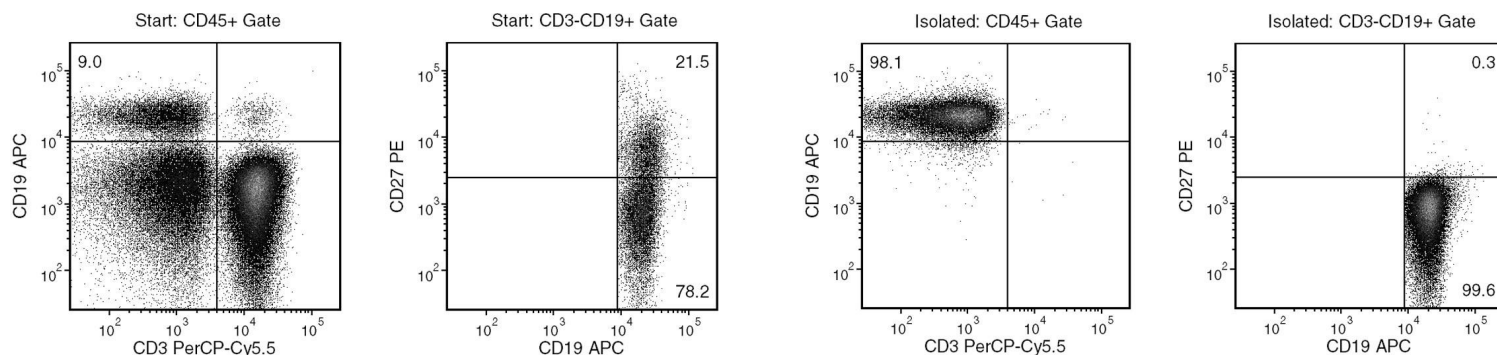
## 注意事项和提示

### 纯度评估

要通过流式细胞术评估Naïve B细胞 (CD3-CD19+CD27-) 的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD19抗体，克隆HIB19 (产品号 #60005)
- 抗小鼠CD27抗体，克隆LG.3A10 (产品号 #60160)
- 抗人CD3抗体，克隆UCHT1 (产品号 #60011; 可选)
- 抗人CD45抗体，克隆HI30 (产品号 #60018; 可选)

## 实验数据



起始样本为人PBMCs，分选后的Naïve B细胞含量 (D3-CD19+CD27-) 通常为  $94.9 \pm 2.2\%$  (平均值  $\pm$  标准差)。在上述实验中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为7.1%和97.7%。

产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问 [WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE](http://WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE)。

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2025。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies 和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、EasyEights、EasyPlate、EasySep、RapidSpheres、RoboSep和SepMate均是 STEMCELL Technologies Canada Inc. 的商标。Lymphoprep是Serumwerk Bernburg AG的商标。所有商标均为各自所有者所有。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。